

09/762519
PCT/JP00/03789

06.07.00

REC'D 25 AUG 2000

WIPO

PCT

日本国特許庁
PATENT OFFICE
JAPANESE GOVERNMENT

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日

Date of Application:

1999年 7月 7日

出願番号

Application Number:

平成11年特許願第193255号

出願人

Applicant (s):

松下電器産業株式会社

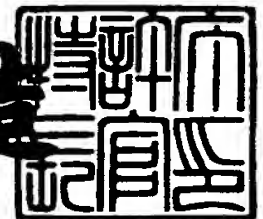
**PRIORITY
DOCUMENT**

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

2000年 8月11日

特許庁長官
Commissioner,
Patent Office

及川耕造



出証番号 出証特2000-3062510

【書類名】 特許願

【整理番号】 2033710085

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 B32B 15/08
A01N 09/02

【発明の名称】 微生物濃度濃縮装置および微生物濃度濃縮方法

【発明者】
【住所又は居所】 大阪府門真市大字門真 1 0 0 6 番地 松下電器産業株式会社内

【氏名】 富岡 敏一

【特許出願人】
【識別番号】 000005821
【住所又は居所】 大阪府門真市大字門真 1 0 0 6 番地
【氏名又は名称】 松下電器産業株式会社

【代理人】
【識別番号】 100072431
【弁理士】
【氏名又は名称】 石井 和郎

【手数料の表示】
【予納台帳番号】 066936
【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】
【物件名】 明細書 1
【物件名】 図面 1
【物件名】 要約書 1
【包括委任状番号】 9905716

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 微生物濃度濃縮装置および微生物濃度濃縮方法

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 間隙を挟んで互いに対向して配置された酸化還元電位の異なる 2 種以上の金属体、および前記金属体同士を短絡させる短絡部を具備する微生物濃度濃縮セルからなり、

前記間隙に微生物懸濁液を保持し、前記金属体を短絡させて酸化還元電位の高い金属体から酸化還元電位の低い金属体に向けて微生物を移動させることにより、前記懸濁液の微生物濃度を濃縮する微生物濃度濃縮装置。

【請求項 2】 前記セルが、酸化還元電位の高い金属体付近の一端に前記懸濁液の導入部、他端に前記懸濁液の排出部を有し、さらに酸化還元電位の低い金属体付近に微生物排出部および／または微生物吸着部を有する請求項 1 記載の微生物濃度濃縮装置。

【請求項 3】 前記間隙に、前記懸濁液が移動することのできる電気絶縁性構造体を有する請求項 1 または 2 記載の微生物濃度濃縮装置。

【請求項 4】 酸化還元電位の最も低い金属体以外の金属体が、前記間隙に前記懸濁液を流入させることのできる構造を有する請求項 1～3 のいずれかに記載の微生物濃度濃縮装置。

【請求項 5】 前記構造が、多孔体、メッシュまたはブラシの構造である請求項 4 記載の微生物濃度濃縮装置。

【請求項 6】 酸化還元電位の最も低い金属体以外の金属体が微生物透過可能な膜状であり、前記懸濁液が移動することのできる電気絶縁性構造体の表面に積層されている請求項 1～3 のいずれかに記載の微生物濃度濃縮装置。

【請求項 7】 請求項 1～6 のいずれかに記載の微生物濃度濃縮セルを複数個有する微生物濃度濃縮装置。

【請求項 8】 (a) 間隙を挟んで酸化還元電位の異なる 2 種以上の金属体を互いに対向させて配置する工程、(b) 前記間隙に微生物懸濁液を導入する工程、(c) 前記金属体を短絡させる工程、ならびに (d) 前記工程 (b) および (c) により酸化還元電位の高い金属体から酸化還元電位の低い金属体の方に微

生物が移動することによって濃縮した懸濁液を回収する工程を含む微生物濃度濃縮方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、微生物懸濁液の除菌、微生物センサーなどの使用の前段階において用いる微生物濃縮装置、および微生物濃度濃縮方法に関する。

【0002】

【従来技術】

従来から、微生物の検出に関して多くの改良がなされてきた。その最大の改良は検出感度の向上である。しかし、微生物による人への被害が認められる濃度と検出感度のあいだにはまだ開きがあり、検出感度のさらなる向上が求められている。

そこで、例えば検体溶液中の微生物濃度を濃縮することによって検出感度を向上させる方法が検討されてきた。このような方法のなかで最も広く行われる方法は、濾過と再分散により微生物濃度を濃縮する方法である。

しかし、濾材に吸着されて再分散時に再抽出されない微生物があり、このような微生物を定量化しにくいという問題があった。

また、前記技術分野においては、定量性が良く、微生物の増殖時間に比べて短時間に、簡単な作業で安価に微生物濃度を濃縮する技術が望まれていた。さらに、濃縮の際に使用した材料などについても、安価でかつ容易に廃棄処理をすることができ、廃棄時に環境を汚染しにくいものが望まれていた。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】

したがって、本発明の目的は、簡素な構成を有し、微生物懸濁液（検体菌液）中の微生物濃度を濃縮することのできる微生物濃度濃縮装置、および微生物濃度濃縮方法を提供することにある。

【0004】

【課題を解決するための手段】

本発明の微生物濃度濃縮装置は、間隙を挟んで互いに対向して配置された酸化還元電位の異なる 2 種以上の金属体、および前記金属体同士を短絡させる短絡部を具備する微生物濃度濃縮セルからなり、前記間隙に微生物懸濁液を保持し、前記金属体を短絡させて酸化還元電位の高い金属体から酸化還元電位の低い金属体に微生物を移動させることにより、前記懸濁液の微生物濃度を濃縮することができるものである。

前記微生物濃度濃縮装置は、酸化還元電位の高い金属体付近の一端に前記懸濁液の導入部、他端に前記懸濁液の排出部を有し、さらに酸化還元電位の低い金属体付近に微生物排出部および／または微生物吸着部を有するのが好ましい。

前記間隙に、前記懸濁液が移動することのできる電気絶縁性構造体を配するのが好ましい。

また、酸化還元電位の高い金属体が、前記間隙に前記懸濁液を流入させることのできる形状を有するのが好ましい。

また、酸化還元電位の最も低い金属体以外の金属体は、多孔体、メッシュまたはブラシの構造を有するのが好ましい。

酸化還元電位の最も低い金属体以外の金属体が微生物透過可能な膜状で、前記懸濁液が移動することのできる電気絶縁性構造体に積層されてなるのが好ましい。

さらに、本発明の微生物濃度濃縮装置は、前記微生物濃度濃縮セルを複数個有していても構わない。

【0005】

また、本発明は、（a）間隙を挟んで酸化還元電位の異なる 2 種以上の金属体を互いに対向させて配置する工程、（b）前記間隙に微生物懸濁液を導入する工程、（c）前記金属体を短絡させる工程、ならびに（d）前記工程（b）および（c）により酸化還元電位の高い金属体から酸化還元電位の低い金属体の方に微生物が移動することによって濃縮した懸濁液を回収する工程を含む微生物濃度濃縮方法にも関する。

【0006】

【発明の実施の形態】

本発明者は、特願平 11-163518 号において、微生物懸濁液（検体菌液ともいう。）に接する電極間に強制的に電圧を印加することにより、負極から正極に向けて微生物を泳動させ、微生物懸濁液の濃度を濃縮することができることを見出した。すなわち、例えば大腸菌および黄色ブドウ球菌などの微生物は、その表面に電荷を有し、電場に応じて移動するのである。

ところが、さらに種々の金属からなる電極を用いて鋭意実験を行ったところ、2種類の電極を用いれば、電極間に強制的に電圧を印加しなくても、単に両電極を短絡させるだけで微生物を移動させることができた。

そこで、本発明者は、前記の種類の異なる金属体が異なる酸化還元電位（イオン化傾向）を有することを見出し、このような酸化還元電位の違いに起因して、微生物を一方の金属体から他方の金属体の方向に移動することをつきとめた。具体的には、酸化還元電位の高い（イオン化傾向の小さい）金属体から酸化還元電位の低い（イオン化傾向の大きい）金属体に向かって微生物が移動する。

すなわち、本発明は、このような検討の結果として得られた酸化還元電位に関する新たな知見に基づいて完成したものである。

【0007】

本発明は、間隙を挟んで互いに対向して配置された酸化還元電位の異なる2種以上の金属体、および前記金属体同士を短絡させる短絡部を具備する微生物濃度セルからなり、前記間隙に微生物懸濁液を保持し、前記金属体を短絡させて酸化還元電位の高い金属体から酸化還元電位の低い金属体に向けて微生物を移動させることにより、前記懸濁液の微生物濃度を濃縮する微生物濃度濃縮装置に関する。

以下、理解の容易のため、前記セルが2種の金属体を含む場合に代表させて、本発明について説明する。

前記金属体はいわゆる電極としての役割を果たす。2種の金属体の組み合わせとしては、酸化還元電位の異なるものの組み合わせであればよいが、特に微生物の移動を確実にするという点から、酸化還元電位差が1.0V程度であるのが好ましい。

ここで、表1に、本発明において用いることのできる金属体およびその酸化還

元電位をいくつか例示する。

【0008】

【表1】

金属の種類	酸化還元電位 (V)
Au	+1.69
Pt	+1.19
Ag	+0.799
Cu	+0.337
Pb	-0.126
Ni	-0.25
Sb	-0.26
Co	-0.277
W	-0.32
Fe	-0.440
Sn	-0.50
Cr	-0.744
Zn	-0.763
V	-1.23
Al	-1.66
Ti	-1.72
Zr	-1.95
Mg	-2.27

【0009】

表1に示す金属のなかでも、酸化還元電位差が大きいという点から、Au (+1.69 V) と Fe (-0.440 V) の組み合わせを用いるのが好ましい。また、安価で入手が容易であるという点から、Cu (+0.337 V) と Zn (-0.763 V) の組み合わせを用いるのが好ましい。

【0010】

このような金属体の構造および形状としては、特に制限はなく、例えば微生物透過可能な膜状、板状、棒状などがあげられる。また、金属焼結体であってもよく、蒸着またはスパッタリングで作製したものでもよい。

ただし、本発明においては、酸化還元電位の高い金属体から酸化還元電位の低い金属体のほうに微生物を移動（泳動）させることから、酸化還元電位の高い金

属体の付近に微生物懸濁液の導入部および排出部を設け、さらに、酸化還元電位の低い金属体付近に微生物排出部または吸着部（後述する。）を有するのが好ましい。

かかる観点から、酸化還元電位の最も低い金属体以外の金属体が、前記間隙に前記懸濁液を流入させることのできる構造であるのが好ましい。具体的には、例えばスポンジメタルなどの多孔体、メッシュまたはブラシの構造とすることができる。

また、酸化還元電位の最も低い金属体以外の金属体を微生物透過可能な膜状とし、前記懸濁液が移動することのできる電気絶縁性構造体の表面に積層されていてもよい。

もちろん、酸化還元電位の低い金属体もこれらのような構造および形状を有していても構わない。

【0011】

また、前記間隙には、前記懸濁液が移動することのできる電気絶縁性構造体を配するのが好ましい。これは、微生物懸濁液を前記間隙に捕捉しやすくすることによって、微生物濃度の濃縮を効率よく行わせること、および微生物懸濁液が外部に散乱することのできるかぎり防ぐことができるからである。

このような電気絶縁性構造体としては、例えば不織布、織布、連続発泡体、紙などがあげられる。また、この構造体を構成する材料としては、ポリエチレンテレフタレートなどのポリエステル、ポリプロピレンなどの熱可塑性樹脂があげられる。

このような電気絶縁性構造体は、使用後には微生物を捕捉しているため、新しいものと取り替えられるようにしておくことができる。

【0012】

つぎに、本発明の微生物濃度濃縮装置を構成する前記セルは、2種の金属体を電氣的に短絡させる短絡部を有する。前記2種の金属体を短絡させることにより、酸化還元電位の異なる金属体間に電場が生じ、微生物を移動させることができる。

このような短絡部は、微生物懸濁液を導入する前からあらかじめ短絡して

もよく、また微生物懸濁液を導入してから短絡させることができるようにしてもよい。

前記短絡部は、短絡部と前記金属体とのあいだにおいて電位差により微生物の移動が起きないように、微生物懸濁液と接触しないように構成するのが好ましい。例えば、前記各金属体からそれぞれの金属で構成されるリード線を導きだして接続すればよい。

【0013】

また、前記セルにおいては、酸化還元電位の高いほうの金属体付近に存在する微生物懸濁液中の微生物濃度が下がるため、その金属体近傍の一端に微生物懸濁液を導入（流入）させる微生物懸濁液導入部を設け、同金属体近傍の他端に微生物濃度の低減された懸濁液の排出部を設けるのが好ましい。

一方、酸化還元電位の低い金属体付近には、電場により微生物が移動して濃縮された微生物懸濁液の排出部を設けるのが好ましい。

さらに、酸化還元電位の低い金属体付近には、微生物吸着部を設けるのが好ましい。この吸着部は、酸化還元電位の低い金属体に、例えばシリカゲルなどを層状に吸着させて形成することができる。

【0014】

以上のように、ここでは、2種の金属体を用いる場合について説明したが、3種以上の金属体を用いる場合についても、同様の方法で微生物濃縮セルを作製することができる。

例えば、酸化還元電位の最も高い金属体、電気絶縁性構造体、2番目に酸化還元電位の高い金属体、電気絶縁性構造体、・・・・・・、酸化還元電位の最も低い金属体の順に積層させた構造をとることができる。

さらに、金属体の配置を適宜変更し、複数の金属体付近から微生物懸濁液を導入し、別の複数の金属体付近から濃縮後の微生物懸濁液を取り出すように設計することも可能である。

【0015】

上述のように、本発明の微生物濃度濃縮装置は、基本的には、前述のような微生物濃度濃縮セルからなる。

したがって、本発明の微生物濃度濃縮装置は、前記微生物濃度濃縮セルを複数個有していてもよい。この場合、複数のセルを互いに機械的に連結し、各セルの短絡部を単一のスイッチで開閉できるようにしてもよい。また、各セルの懸濁液導入部を連結して単一の導入部を構成してもよい。微生物濃度の低減された懸濁液の排出部、および微生物濃度の濃縮された懸濁液排出部についても同様である。

【0016】

本発明は、前述した微生物濃度濃縮装置の原理を用いた微生物濃度濃縮方法にも関する。

具体的には、(a) 間隙を挟んで酸化還元電位の異なる2種以上の金属体を互いに対向させて配置する工程、(b) 前記間隙に微生物懸濁液を導入する工程、(c) 前記金属体を短絡させる工程、ならびに(d) 前記工程(b) および(c) により酸化還元電位の高い金属体から酸化還元電位の低い金属体の方に微生物が移動することによって濃縮した懸濁液を回収する工程を含む微生物濃度濃縮方法に関する。

これらの工程は、前述した本発明の微生物濃度濃縮装置の説明にしたがって行えばよいが、工程(a)、工程(b) および工程(c) の順番については、特に制限はない。例えば、間隙を挟みつつあらかじめ短絡させた2種の金属体を微生物懸濁液中に浸漬してもよく、間隙を挟んで配置された2種の金属体を微生物懸濁液に浸漬した後に短絡させてもよい。

【0017】

【実施例】

以下に、実施例を用いて本発明をより具体的に説明するが、本発明はこれらのみに限定されるものではない。

＜実施例1＞

本実施例を図面を参照しながら説明する。

径が50 μm の金線を用いて織った開口率50%の金メッシュ1、ポリエチレンテレフタレート製の厚さ約100 μm の不織布スペーサ（電気絶縁性構造体）2、厚さ100 μm の鉄箔3を、図1に示すように積層し、微生物濃度濃縮セル

(10 cm×10 cm) を作製した。

ついで、図 2 に示すように、このセル 5 枚を星形方向に配するように併置した後、各セルの金メッシュ 1 の一端と鉄箔 3 の一端を短絡させて短絡部を形成し、本発明の微生物濃縮装置とした。なお、金メッシュ 1 および鉄箔 3 には、それぞれ短絡部を形成する端子部 4 または 5 を設けた。

〔評価〕

つぎに、微生物として大腸菌を約 1000 cfu/ミリリットル含む微生物懸濁液 (1 リットル) の中に、得られた微生物濃度濃縮装置を静かに浸漬した。この浸漬により、不織布スペーサ 2 の間隙に前記懸濁液が流入し、微生物は約 2 μm/sec の速さで鉄箔 3 方向に移動した。

【0018】

〈実施例 2〉

鉄箔 3 に代えて、表面に微生物吸着層としてシリカゲルを配置した厚さ 100 μm の亜鉛箔を用いたほかは、実施例 1 と同様にして微生物濃度濃縮セルおよび微生物濃度濃縮装置を作製した。

ついで、実施例 1 と同様にして評価したところ、実施例 1 と同様の効果を得た。

〈実施例 3〉

径が 50 μm の金線を用いて織った開口率 50 % の金メッシュ、ポリエチレンテレフタレート製の厚さ約 100 μm の不織布スペーサ、径が 100 μm の鉄線を用いて織った開口率 50 % の鉄メッシュ、および表面に微生物吸着層としてシリカゲルを配置した厚さ 100 μm の亜鉛箔を積層し、微生物濃度濃縮セルを作製した。ついで、金メッシュの一端と鉄メッシュの一端、および鉄メッシュの一端と亜鉛箔の一端とをそれぞれ短絡させ、本発明の微生物濃度濃縮装置とした。

ついで、実施例 1 と同様にして評価したところ、実施例 1 と同様の効果を得た。

【0019】

【発明の効果】

本発明の微生物濃度濃縮装置によれば、微生物懸濁液 (検体菌液) の濾過と再

抽出により微生物濃度の濃縮を行っていた方法に較べ、少ない工程数で、簡易かつ短時間に定量性よく安定して微生物懸濁液中の微生物濃度の濃縮を行うことができる。

また、除菌装置として利用すれば、外部電源などの装置を用いることなく、簡潔に微生物の除去ができるという効果を奏する。

【図面の簡単な説明】

【図 1】

本発明の実施例において作製した微生物濃度濃縮セルの構造を示す模式図である。

【図 2】

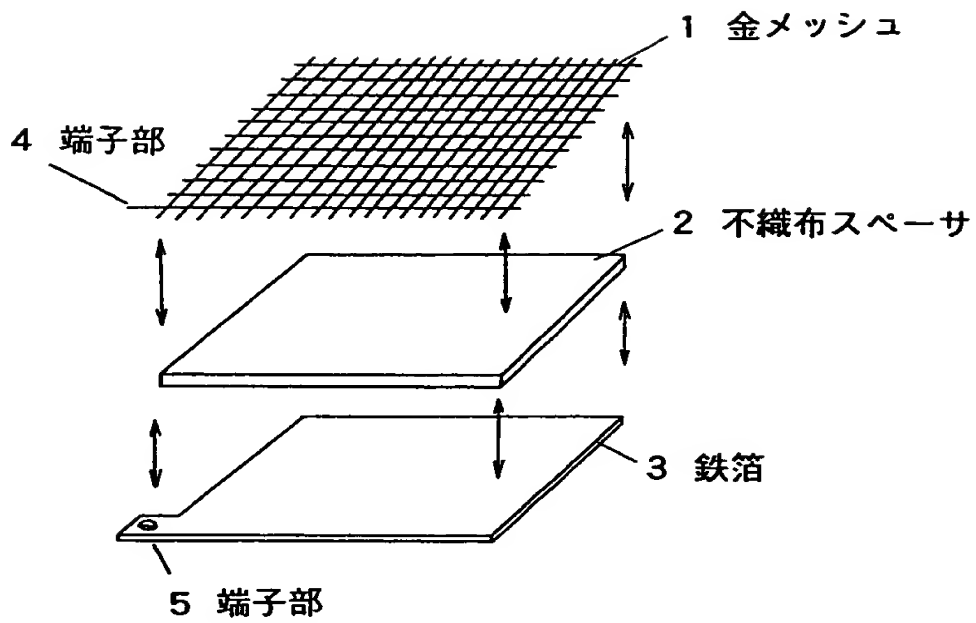
本発明の実施例において作製した微生物濃度濃縮装置の構造を示す模式図である。

【符号の説明】

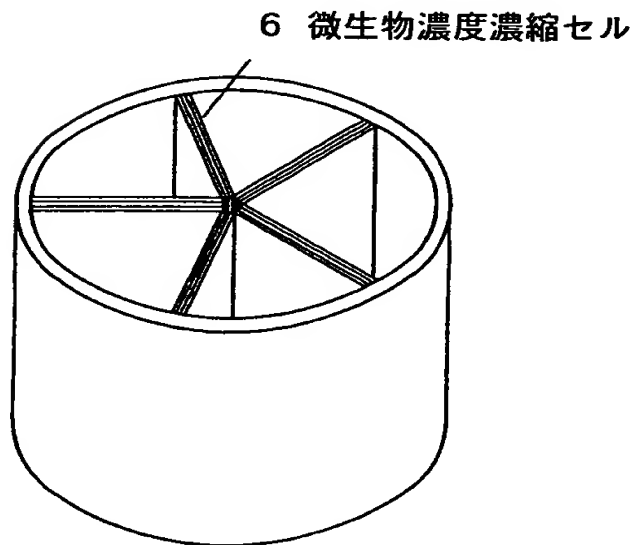
- 1 金メッシュ
- 2 不織布スパーサ
- 3 鉄箔
- 4、5 端子部
- 6 微生物濃度濃縮セル

【書類名】 図面

【図 1】



【図 2】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 定量性が良く、微生物の増殖時間に比べて短時間に、簡単な作業で安価に微生物濃度を濃縮する技術を提供する。

【解決手段】 間隙を挟んで互いに対向して配置された酸化還元電位の異なる2種以上の金属体、および前記金属体同士を短絡させる短絡部を具備する微生物濃度濃縮セルからなり、前記間隙に微生物懸濁液を保持し、前記金属体を短絡させて酸化還元電位の高い金属体から酸化還元電位の低い金属体に向けて微生物を移動させることにより、前記懸濁液の微生物濃度を濃縮する微生物濃度濃縮装置。

【選択図】 図1

認定・付加情報

特許出願の番号	平成11年 特許願 第193255号
受付番号	59900652825
書類名	特許願
担当官	第六担当上席 0095
作成日	平成11年 7月 9日

<認定情報・付加情報>

【提出日】	平成11年 7月 7日
-------	-------------

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000005821]

1. 変更年月日	1990年 8月28日
[変更理由]	新規登録
住 所	大阪府門真市大字門真1006番地
氏 名	松下電器産業株式会社
